

© Гнідь Р. М., Дирик В. Т.

УДК 616.36 – 099: 592.285 – 06. 616.13

Гнідь Р. М., Дирик В. Т.

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ У ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ ЗА ВПЛИВУ ПЕСТИЦИДІВ

Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького (м. Львів)

Gnid_roman@ukr.net

Дана робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології ФПДО ЛНМУ ім. Данила Галицького «Екологія та пародонт. Взаємозв'язок захворювань тканин пародонта з загальносоматичною патологією» № державної реєстрації 0215U000045.

Вступ. Організм людини функціонує у нерозривній єдності з навколишнім середовищем, що закономірно привертає увагу науковців до проблеми «екологія-здоров'я». Антропогенні чинники оточуючого середовища викликають у відповідь дезадаптацію попередньо сформованих біогенетичних і психофізіологічних характеристик організму, що призводить до зростання частоти і обтяжує перебіг низки хвороб [1,2]. Підтвердженням тісного зв'язку макроорганізму та тканин пародонта з факторами зовнішнього середовища є висока частота пародонтиту в екологічно забруднених регіонах [2,6]. У цьому аспекті вивчення несприятливих впливів доквілля на стан зубоутримуючих тканин належить до пріоритетних наукових напрямків. У контексті таких досліджень наукову і практичну значимість становить вивчення причинно-наслідкових зв'язків виникнення та перебігу захворювань пародонта на фоні впливу професійних шкідливостей та визначення особливостей надання стоматологічної допомоги працюючим [2,4,6].

Питання токсичної дії фосфороорганічних сполук (ФОС) на організм тварин і людини інтенсивно вивчають від початку їх застосування у господарських цілях, переважно як інсектицидних препаратів широкого спектру дії [4,7]. Одним із найвідоміших їх представників є хлорпірифос ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$) (ХПФ). Цю сполуку, у чистому вигляді і як діючу речовину низки комплексних агрохімічних засобів, унаслідок низької вартості і водночас високої пестицидної ефективності використовують у сільському господарстві України у великих кількостях, що створює ризики токсичного впливу ХПФ на органи та тканини тварин і людей [1,4]. Особливо актуальним є дослідження первинних токсичних реакцій організму при хронічній дії низьких доз ХПФ на активність ензимів та гематологічних параметрів.

Мета дослідження. З'ясувати вплив різноскерованої інтоксикації щурів з модельованим пародонтитом на ключові показники гематологічного профілю та маркери ендогенної інтоксикації.

донтитом на ключові показники гематологічного профілю та маркери ендогенної інтоксикації.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведено на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 160–180 г. Під час експерименту вони перебували на стандартному раціоні віварію. У процесі роботи використано 80 тварин.

Усі етапи експериментів затверджені Комісією з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького і виконані згідно з правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин та Міжнародними вимогами щодо гуманного поводження з тваринами відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Усіх піддослідних тварин було поділено на 4 групи, кожна з яких містила по 20 щурів: I група – інтактні щури (контрольна); II група – тварини з моделлю пародонтиту. Щурам цієї групи протягом 2-х тижнів, через день, вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) *E. Coli* («Sigma-Aldrich», США) [2]; III група – тварини з модельованим пародонтитом, яким щоденно протягом двох тижнів за допомогою перорального зонду вводили розчинений у олії хлорпірифос («Sigma-Aldrich», США) з розрахунку 5 мг/кг; IV група – тварини з модельованим пародонтитом, які знаходились у камері, упродовж 3 годин, з інгаляційною подачею ХПФ з розрахунку 5 мг/кг.

Кров для досліджень відбирали після припинення експериментальних кроків з хвостової вени щурів. Під час біохімічних та імунологічних досліджень використовували сироватку крові, яку отримували шляхом центрифугування крові при 600 об/хв протягом 30 хвилин при температурі 20°C. Для з'ясування процесів анемії, яка, у свою чергу, викликає гіпоксичні зміни в органах та тканинах, проводили дослідження гематологічного гомеостазу за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора «Erma-PCE 210» («ERMA INC.», Японія). У крові експериментальних щурів тестували вміст еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту.

Стан ендогенної інтоксикації (ЕІ) оцінювали за показниками сорбційної здатності еритроцитів (СЗЕ) та середньомолекулярних пептидів (СМП). СЗЕ визначали методикою, в основі якої лежать

Таблиця 1.

Вміст середньомолекулярних пептидів та сорбційна здатність еритроцитів в крові тварин груп дослідження

| Показники | I група | II група | III група | IV група |
|--------------|--------------|---------------------|---|--|
| СМП, ум. од. | 0,45 ± 0,07 | 0,58 ± 0,06 * | 0,64 ± 0,05 ** ^o ; | 0,89 ± 0,04 *** ^{oo} ;* |
| СЗЕ, % | 36,50 ± 1,35 | 29,44 ± 1,26 *** | 20,68 ± 1,29 *** ^{ooo} ; | 15,59 ± 1,30 *** ^{ooo} ;*** |

Примітки: * $p > 0,05$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,01$ – достовірна різниця значень стосовно даних I групи тварин. ^o $p_1 > 0,05$; ^{oo} $p_1 < 0,05$; ^{ooo} $p_1 < 0,01$ – достовірна різниця значень стосовно даних II групи тварин. ^o $p_2 > 0,05$; ^{oo} $p_2 < 0,05$ – достовірна різниця значень між III та IV групами тварин.

уявлення про еритроцити, як універсальний адсорбент, який дозволяє оцінити рівень EI за зміною сорбційної здатності еритроцитів полярного, практично непроникного через їхню мембрану, метиленового синього [3]. Визначення вмісту СМП проводили за методикою Тогайбаєва А. А. [5].

Для об'єктивної оцінки ступеня достовірності результатів дослідження проведена статистична обробка отриманих даних з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики за допомогою персонального комп'ютера Pentium II з застосуванням пакета статистичних програм «Statgraphic 2.3» і «Microsoft Excel 2000».

Результати досліджень та їх обговорення. На початок дослідження усі тварини мали інтактну слизову оболонку порожнини рота, без патологічних змін, відсутності кровоточивості ясен та наявності ексудату при пальпації. Патологічна рухомість різців нижньої щелепи не визначалась, глибина зубоясенного з'єднання, у середньому, складала $1,0 \pm 0,017$ мм.

З 1 по 14 день експерименту у всіх групах щурів, крім контрольної, утворювали модель пародонтиту. На 5-7 добу у яснах всіх тварин реєструвались клінічні ознаки запалення: набряк і гіперемія слизової оболонки ясен. На 14 добу у III та IV групах запальні зміни слизової оболонки ясен та зубоясенного кріплення збільшувались: у всіх тварин з'явилась кровоточивість та серозно-гнійні виділення з зубоясенних кишень. У 11 тварин (55%) IV групи, які утримувались у камері, в яку подавалась аерозольна пестицидна суміш, спостерігали утворення свищів у піднижньощелеповій ділянці. Глибина зубоясенних кишень у щурів з модельованим пародонтитом за впливу пестицидів, у середньому, складала $2,70 \pm 0,13$ мм. Летальний результат був зареєстрований у 1 тварини III групи (5,0%) та у 2-ох щурів IV групи (10,0%). Звертало увагу, що у тварин II-III груп виявляли II ступінь, а у тварин IV групи – III ступінь рухомості зубів.

Синдром ендогенної інтоксикації, найбільше розповсюджений у клінічній практиці, спостерігається при різних патогенетично й етіологічно відмінних запальних процесах і характеризується накопиченням токсичних продуктів метаболізму. Тому, завданням дослідження було вивчення стану ендогенної інтоксикації у організмі щурів з модельованим пародонтитом в умовах різного токсикогенного навантаження пестицидів. Серед маркерів даного синдрому визначені є середньомолекулярні пептиди (СМП) та сорбційна здатність еритроцитів (СЗЕ). Динаміка змін вмісту СМП у периферійній крові щурів та СЗЕ у тварин груп дослідження представлена у **таблиці 1**.

Нами встановлено, що у інтактних тварин I групи вміст СМП у крові складав $0,45 \pm 0,07$ ум. од. У тварин II групи, з модельованим пародонтитом, вміст СМП у крові дорівнював $0,58 \pm 0,06$ ум. од., що перевищувало значення у інтактних щурів на 28,88%, $p > 0,05$. У експериментальних тварин III групи, у яких модельовані пародонтопатогенні явища комбіну-

вались з пероральним впливом пестицидів, вміст СМП у крові збільшувався до $0,64 \pm 0,05$ ум. од., що було на 42,22% вище, ніж у інтактних тварин I групи, $p < 0,05$ та на 10,34% перевищувало значення у тварин II експериментальної групи, $p_1 > 0,05$. У щурів з модельованим пародонтитом IV групи, з поєднаним інгаляційним впливом пестицидів, значення СМП у крові було максимальним та становило $0,89 \pm 0,04$ ум. од., $p_2 > 0,05$. Отриманий показник був на 97,78% та на 53,44% вище стосовно даних у щурів I та II груп, відповідно, $p < 0,01$; $p_1 < 0,05$.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у інтактних тварин I групи СЗЕ становила $36,50 \pm 1,35\%$, що було на 19,35% більше, ніж у тварин з модельованим пародонтитом II групи ($29,44 \pm 1,26\%$), $p < 0,01$. У експериментальних щурів III групи СЗЕ зменшувалась до $20,68 \pm 1,29\%$, що було на 43,35% та на 29,76% менше стосовно даних інтактних тварин, $p < 0,01$ та щурів II групи, $p_1 < 0,01$. Мінімальні значення СЗЕ були досліджені у IV групі експериментальних щурів – $15,59 \pm 1,30\%$, $p_2 < 0,05$, які були нижче на 57,29%, ніж у інтактних тварин, $p < 0,01$ та на 47,05% менше, ніж у тварин з модельованим пародонтитом II групи, $p_1 < 0,01$.

Враховуючи, що стан ендогенної інтоксикації викликає дисфункції багатьох органів та систем організму, нами були вивчені окремі гематологічні показники крові у тварин з модельованим пародонтитом на тлі токсикогенного впливу пестицидів (**табл. 2**).

Результати досліджень довели, що максимальний вміст еритроцитів у крові був у щурів I групи – $8,03 \pm 0,49 \times 10^{12}/л$. У тварин з модельованим пародонтитом концентрація еритроцитів у периферійній крові зменшувалась до $5,70 \pm 0,47 \times 10^{12}/л$, що було на 29,02% менше стосовно значень попередньої групи, $p < 0,01$. У той же час, у тварин III групи досліджували подальше зниження даного показника – до $4,72 \pm 0,39 \times 10^{12}/л$, значення якого було на 41,23% та на 17,20% нижче стосовно даних у щурів I та II груп, відповідно, $p < 0,01$; $p_1 > 0,05$. Мінімальний вміст еритроцитів у периферійній крові був встановлений нами у тварин IV піддослідної групи – $4,46 \pm 0,43 \times 10^{12}/л$, а отримане значення було на 44,46% та на 21,76% менше стосовно даних у інтактних щурів та у тварин з модельованим пародонтитом, $p < 0,01$; $p_1 > 0,05$.

Таблиця 2.
Гематологічні показники периферійної крові щурів за впливу пестицидів

| Показники | I група | II група | III група | IV група |
|----------------------------------|--------------------|--------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Еритроцити, $1 \times 10^{12}/л$ | $8,03 \pm 0,49$ | $5,70 \pm 0,47$ * | $4,72 \pm 0,39$ *,° | $4,46 \pm 0,43$ *,°,* |
| Концентрація гемоглобіну, г/л | $130,40 \pm 10,43$ | $120,30 \pm 12,15$ ** | $100,88 \pm 12,02$ **°,° | $97,00 \pm 10,66$ ***°,*,* |
| Гематокрит, % | $38,10 \pm 3,01$ | $32,16 \pm 3,20$ ** | $26,54 \pm 2,93$ ***°,° | $21,60 \pm 3,18$ *,°,*,* |

Примітки: * $p < 0,01$; ** $p > 0,05$; *** $p < 0,05$ – достовірна різниця значень стосовно даних I групи. ° $p_1 > 0,05$; °° $p_1 < 0,05$ – достовірна різниця значень стосовно даних II групи. °°° $p_2 > 0,05$ – достовірна різниця значень між III та IV групами.

Звертало увагу, що у IV експериментальній групі кількісний вміст еритроцитів у крові був на 5,51% нижче стосовно даних у тварин III піддослідної групи, $p_2 > 0,05$.

Концентрація гемоглобіну у крові щурів з модельованим пародонтитом знижувалась на 7,75% у порівнянні з даними у інтактних тварин ($120,30 \pm 12,15$ г/л проти $130,40 \pm 10,43$ г/л, відповідно, $p > 0,05$). У щурів з модельованим пародонтитом, які зазнавали перорального впливу пестицидів, вміст гемоглобіну у крові становив $100,88 \pm 12,02$ г/л, що було на 22,64% нижче, ніж у інтактних тварин, $p < 0,05$, та на 16,15% менше стосовно даних у щурів II групи, $p_1 > 0,05$. Найбільше зниження концентрації гемоглобіну у крові досліджували у тварин IV групи – $97,00 \pm 10,66$ г/л. Отримане значення було значно нижче стосовно даних у I та II піддослідних групах: на 25,62% та на 19,37%, відповідно, $p < 0,05$; $p_1 > 0,05$. Концентрація гемоглобіну у тварин IV групи, у яких пародонтопатогенні явища поєднувались з інгаляційним впливом пестицидів, була на 3,85% менше стосовно даних у щурів III групи, де модельований пародонтит комбінувався з пероральним введенням пестицидів, $p_2 > 0,05$.

Концентрація гематокриту у щурів з модельованим пародонтитом II групи суттєво не відрізнялась

від даних у інтактних тварин ($32,16 \pm 3,20\%$ та $38,10 \pm 3,01\%$ відповідно, $p > 0,05$). Однак у щурів III та IV груп, які зазнавали токсикогенного впливу пестицидів, концентрація гематокриту значно зменшувалась: до $26,54 \pm 2,93\%$ у III-ій, $p < 0,05$ та до $21,60 \pm 3,18\%$ у IV групах дослідження, $p < 0,01$, стосовно даних у інтактних тварин, а процентне зниження, відповідно, становило 30,35% та 43,31%. Слід зауважити, що значення проаналізованого показника у щурів III групи було на 17,48% нижче, $p_1 > 0,05$ та у IV піддослідній групі – на 32,83% менше, $p_1 < 0,05$, стосовно значень у тварин II групи з модельованим пародонтитом. У той же час, суттєвої різниці значень даного показника не виявляли у III та IV експериментальних групах, $p_2 > 0,05$.

Висновки. Таким чином, у щурів груп дослідження вміст СМП у крові збільшувався, що свідчило про наростання запальних процесів у організмі тварин, а особливо за впливу пестицидів та неспроможністю елімінувати негативний вплив токсикантів [1]. Порівняння величин СЗЕ між групами довело, що за впливу пестицидів, значення цього показника зменшувались, тобто ця елімінаційна спроможність організму не спрацювала та була недосконалою, особливо у тварин IV групи, які зазнавали інгаляційного впливу пестицидів. З великою ймовірністю, можливо припустити, що у тварин більш яскраво виражені анемічні процеси у організмі, що, у свою чергу, сприяє виникненню гіпоксії у органах та тканинах тварин та може викликати інтенсифікацію запальних процесів у тканинах пародонта [4].

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчити динаміку імунологічних показників сироватки крові у щурів з експериментальним пародонтитом на тлі токсичного впливу пестицидів та дослідити корегуючий вплив лікувально-профілактичного комплексу на гематологічні, імунологічні та біохімічні параметри крові.

Література

1. Андрейчин С. М. Сучасні уявлення про метаболічну ендогенну інтоксикацію / С. М. Андрейчин, Т. О. Голомша // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 1. – С. 84-87.
2. Запальні захворювання пародонта / Т. Д. Заболотний, А. В. Борисенко, Т. І. Пупін. – Львів: ГалДент, 2013. – 205 с.
3. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии и диагностики / А. И. Карпищенко. – СПб: Интермедика, 1999. – 656 с.
4. Курлянский Б. О. Общая токсикология / Б. О. Курлянский, В. А. Филатов. – М.: Медицина, 2002. – 608 с.
5. Тогайбаев А. А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
6. Bandrivska N. N. Clinical symptomatology of inflammatory parodontal disease / N. N. Bandrivska, Y. L. Bandrivsky // Український медичний альманах. – 2008. – № 4. – С. 19-21.
7. Chlorpyrifos-induced alteration of hematological parameters in Wistar rats: ameliorative effect of zinc / S. Ambali, A. Abubakar, M. Shittu [et al.] // Research Journal of Environmental Toxicology. – 2010. – N 2. – P. 55-66.

УДК 616.36 – 099: 592.285 – 06. 616.13

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ У ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ ЗА ВПЛИВУ ПЕСТИЦИДІВ

Гнідь Р. М., Дирик В. Т.

Резюме. Досліджено динаміку показників ендогенної інтоксикації (середньомолекулярних пептидів, сорбційної здатності еритроцитів) та гематологічних параметрів (вміст еритроцитів, гематокриту, гемоглобіну) у щурів з експериментальним пародонтитом на моделі токсичного ураження пестицидами. Встановлено,

що пероральний та інгаляційний вплив пестицидів викликають прогресування патологічного процесу у пародонті та обумовлюють виснаження компенсаторних можливостей організму, що проявляється у дисбалансі маркерів ендогенної інтоксикації і зсувом гематологічних показників у бік анемії.

Ключові слова: пародонтит, ендогенна інтоксикація, пестициди, еритроцити.

УДК 616.36 – 099: 592.285 – 06. 616.13

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ

Гнидь Р. М., Дырык В. Т.

Резюме. Исследована динамика показателей эндогенной интоксикации (среднемолекулярных пептидов, сорбционной способности эритроцитов) и гематологических параметров (содержание эритроцитов, гематокрита, гемоглобина) у крыс с экспериментальным пародонтитом на модели токсического поражения пестицидами. Установлено, что пероральное и ингаляционное влияние пестицидов вызывают прогрессирование патологического процесса в пародонте и обуславливают истощение компенсаторных возможностей организма, что проявляется в дисбалансе маркеров эндогенной интоксикации и сдвигом гематологических показателей в сторону анемии.

Ключевые слова: пародонтит, эндогенная интоксикация, пестициды, эритроциты.

UDC 616.36 – 099: 592.285 – 06. 616.13

DYNAMICS OF INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS WITH SIMULATED PERIODONTAL DISEASE AT THE INFLUENCE OF PESTICIDES

Gnid R. M., Dyryk V. T.

Abstract. The human organism functions in unity with environment, which appropriately attracts to the problem of “ecology-health” attention of scientists. In this aspect, the studying of unfavorable influences of environment on the state of tooth tissue is among the priority scientific directions.

The question of toxic action of organophosphorus compounds (OPhC) on the organism of animals and people have been intensively studied from the beginning of their use in economic purposes, mainly as insecticide preparations of wide spectrum of action. Especially actual is research of primary toxic reactions of organism at the chronic exposure of low doses of chlorpyrifos on the activity of enzymes and hematological parameters.

The purpose of our work is to find out the influence of differently directed intoxication of rats with simulated periodontitis on the main indicators of hematologic profile and markers of endogenous intoxication.

Materials and research methods. The experiments were conducted on white outbred rats-males weighing 160–180 g. During the experiment they were kept on the standard ration of vivarium. In the process of work 80 animals were used. An experimental animals were divided into 4 groups.

In the blood of experimental rats tested the content of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit. The state of endogenous intoxication (EI) was estimated by indicators of sorption ability of erythrocytes (SZE) and midmolecular peptide (MMP). SZE determined by methodology which is based on ideas about erythrocytes as an universal adsorbent, which help to estimate the level of EI after the change of sorption ability of erythrocytes polar, practically impermeable through their membrane, methylene blue. The definition of content of MMP conducted with using the method of Togaybayev A. A.

For the objective estimation of degree of reliability of the research results the statistical processing of the obtained data is conducted with the use of generally accepted methods of variation statistics.

Results of research and their discussion. At the beginning of research all animals had intact mucous membrane of the oral cavity without pathological changes, absence of bleeding gums and the presence of exsudate is at palpation. The pathological mobility of mandibular incisors was absent, the depth of dental gingival connection, in average, in rats was 1.0 ± 0.017 mm.

From 1 to 14 day of the experiment in all groups of rats except control, had formed a model of periodontitis. The depth of periodontal pockets in rats with simulated periodontal disease because of the influence of pesticides, in average, amounted to 2.70 ± 0.13 mm. The lethal result was registered in one animal of III group (5.0%) and in two rats of IV group (10.0%). It was paid attention that II degree showed II–III groups, and degree mobility of the teeth was in animals of III-IV group.

The dynamics of changes in the content of medium molecular peptides in the peripheral blood of rats and sorption ability of erythrocytes in animals of research groups are presented in table 1. We studied individual hematological parameters of blood of animals with simulated periodontitis on the background of the toxicogenic impact of pesticides, presented in table 2.

The minimum content of erythrocytes in the peripheral blood was set by us in animals of the IV experimental group – $4.46 \pm 0.43 \times 10^{12}/l$, and the obtained values were on 44.46% and on 21.76% less relative to the data in intact rats and animals with simulated periodontitis, $p < 0.01$; $p_1 > 0.05$.

The most decrease of concentration of hemoglobin in the blood (97.00 ± 10.66 g/l) was found in the animals of IV group. The obtained value was significantly lower relative to the data in I and II experimental groups: 25.62% and 19.37% respectively, $p < 0.05$; $p_1 > 0.05$.

The concentration of hematocrit in rats with simulated periodontitis of II group did not differ significantly from the data in intact animals ($32.16 \pm 3.20\%$ and $38.10 \pm 3.01\%$, respectively, $p > 0.05$).

Conclusions. Thus, in rats of research groups the content of midmolecular peptide increased in the blood that had testified the increase of inflammatory processes in the organism of animals, and especially at the influence of pesticides and inability to eliminate the negative influence of toxicants. The comparison of size of sorption ability of erythrocytes proved between groups that at the influence of pesticides, the values of this indicator decreased, so this elimination possibility of organism didn't work and was imperfect, especially in animals of IV group, which tested inhalation influence of pesticides.

Keywords: periodontal disease, endogenous intoxication, pesticides, erythrocytes.

Рецензент – Скрипнікова Т. П.

Стаття надійшла 03.02.2016 року